

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001 年 11 月 1 日 (01.11.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/80891 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 45/00, 38/55, 38/00, 39/395, A61P 11/00, A01K 67/00, G01N 33/15 (71) 出願人 および (72) 発明者: 星野友昭 (HOSHINO, Tomoaki) [JP/JP]; 〒818-0034 福岡県筑紫野市美しが丘南1-8-7 Fukuoka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/03467 (74) 代理人: 相川法男 (AIKAWA, Norio); 〒534-0016 大阪府大阪市都島区友渕町一丁目5番90号 日本オルガノン株式会社 特許室内 Osaka (JP).
- (22) 国際出願日: 2001 年 4 月 23 日 (23.04.2001) (25) 国際出願の言語: 日本語 (26) 国際公開の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (30) 優先権データ:
特願2000-166845 2000 年 4 月 25 日 (25.04.2000) JP
特願2000-245301 2000 年 7 月 7 日 (07.07.2000) JP
特願2000-345035 2000 年 11 月 13 日 (13.11.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 日本オルガノン株式会社 (NIPPON ORGANON K.K.) [JP/JP]; 〒534-0016 大阪府大阪市都島区友渕町一丁目5番90号 Osaka (JP). (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,

[続葉有]

(54) Title: REMEDIES FOR INTERSTITIAL PNEUMONIA, METHOD OF CONSTRUCTING ANIMAL MODEL OF THIS DISEASE AND SCREENING METHOD WITH THE USE OF THE SAME

(54) 発明の名称: 間質性肺炎治療薬および当該疾病の動物モデルの作成方法並びにそれを用いるスクリーニング方法

(57) Abstract: Remedies for interstitial pneumonia containing, as the active ingredient, one or more members selected from among IL-18 and IL-2 inhibitors. A method of constructing an animal model of the above disease and a screening method with the use of the same. The above remedies inhibit the excessive expression of the functions of IL-18/IL-2 participating in the onset of interstitial pneumonia, and thus exert a therapeutic effect. The above animal model exhibits clinical findings closely similar to human cases and thus enables accurate screening of a drug expected as clinically efficacious.

(57) 要約:

IL-18 および/または IL-2 阻害剤の少なくとも1種または2種以上を有効成分とする間質性肺炎治療薬。

当該疾病の動物モデルの作成方法およびそれを用いる間質性肺炎治療薬のスクリーニング方法。

上記治療薬は、間質性肺炎の発症に関与する IL-18 / IL-2 の過剰な作用発現を抑えることにより治療効果をもたらす。上記動物モデルは、ヒト臨床所見に非常に近いことから、臨床上の有効性が期待し得る薬剤を的確にスクリーニングできる。



WO 01/80891 A1



LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

添付公開書類:

— 国際調査報告書

明 細 書

間質性肺炎治療薬および当該疾病の動物モデルの作成方法並びにそれを用いるスクリーニング方法

技術分野

本発明は、インターロイキン18阻害剤および/またはインターロイキン2阻害剤の少なくとも1種または2種以上を有効成分とすることを特徴とする間質性肺炎治療薬に関する。

また、本発明は、間質性肺炎治療薬の動物モデルの作成方法および当該動物モデルを用いる間質性肺炎治療薬のスクリーニング方法に関する。

背景技術

間質性肺炎は、乾性咳嗽と息切れを主症状とし、ときに発熱や関節痛などを伴う疾患であるが、全身性疾患に合併する場合には、他の全身症状が認められる。

間質性肺炎には急性型と慢性型があり、急性型には、ハンマン・リッチ症候群 (Hamman-Rich syndrome) が知られる。間質性肺炎の治療には、主としてステロイド剤が用いられるが、一般に予後は不良で肺線維症へと移行するものが多く、肺線維症へ移行すれば重篤な経過を辿るため、間質性肺炎の治療ひいては肺線維症の予防・治療のための新たな治療薬が求められている。

従来、ブレオマイシンやシリカをマウスに投与することによって肺線維症が誘導されることは知られていたが、間質性肺炎の適当な動物モデルは知られていなかった。

インターロイキン18 (IL-18) は、マクロファージの産性するインターフェロン γ (IFN- γ) 誘導因子として1995年に発見された最も新しいサイトカインである [Nature 378, 88-91 (1995)]。IL-18は、前駆体 (pro IL-18) として合成された後、インターロイキン 1 β 変換酵素 [カスパーゼ 1 (caspase-1)] 等により切断されて活性型 (mature IL-18) となる。マウス IL-18

の前駆体は192個のアミノ酸よりなり、その活性型は157個のアミノ酸よりなる。

また、ヒトIL-18の前駆体は193個のアミノ酸よりなり、その活性型は157個のアミノ酸よりなる。

IL-18の受容体は、IL-1受容体ファミリーに属し、IL-18R α とIL-18R β とが知られている。

IL-18は、1型ヘルパーT細胞(Th1)やナチュラルキラー細胞(NK細胞)に作用してIFN- γ の産性を誘導するほか、細胞傷害性T細胞活性を増強させることにより細胞傷害活性を増強することが知られており、Th1応答をもたらす炎症性サイトカインと考えられている。

これらのことからTh1過剰反応が原因であるインシュリン依存性糖尿病や多発性硬化症およびクローン病等とIL-18との関連が注目されてきた。

しかしながら、これまで間質性肺炎とIL-18の関連については全く知られていなかった。

インターロイキン2(IL-2)は、主としてT細胞(CD4 $+$ 、CD8 $+$)が分泌するサイトカインで、133個のアミノ酸よりなる。IL-2はT細胞増殖因子(TCGF)とも呼ばれ、T細胞を増殖させるが、IL-2はT細胞ばかりでなく、B細胞、NK細胞、マクロファージ、好中球等にも作用を及ぼすことが知られている。そして、これら細胞の細胞表面にはIL-2受容体が発現している。IL-2受容体は、 α 鎖、 β 鎖および γ 鎖のサブユニットからなる複合体であり、 α 鎖はTac抗原とも呼ばれ、251個のアミノ酸よりなる。また、 γ 鎖はIL-4受容体、IL-7受容体およびIL-9受容体の第二のサブユニットであり、 β 鎖と γ 鎖のサブユニットはIL-15受容体の第二および第三のサブユニットである。

国際出願WO99/51580号公報には、IL-2の産生を阻害するピラゾール誘導体が、免疫が介在する疾患の治療に用いられることが開示されており、当該疾患として、多数例示されている疾患のなかに肺腺維症および特発性間質性肺炎の記載も挙げられている。

しかしながら、例示されているいずれの疾患においても、IL-2の産生を阻害することに基く治療効果については、何ら具体的な記載がない。

発明の開示

本発明の目的は、間質性肺炎の治療に用いられる新規な間質性肺炎治療薬を提供することである。

また、本発明の目的は、間質性肺炎治療薬の動物モデルの作成方法および当該動物モデルを用いた間質性肺炎治療薬のスクリーニング方法を提供することである。

本発明者は、IL-18の生体内での役割を明らかにするために、マウスにIL-2を投与してリンパ球を活性化させた状態で、IL-18を投与した際の変化を観察した。

その結果、IL-18の投与により間質性肺炎が惹起されることを見出し、間質性肺炎の病態形成にIL-18が深く係っていることを見出した。

本発明者は、IL-18の過剰な作用発現を抑えることによって間質性肺炎の発症が抑えられると考え、この仮説を実証するためにIL-18受容体(IL-18R α)ノックアウト・マウスを用いて検討した結果、IL-18の働きを抑えることによって間質性肺炎の発症が抑えられることを確かめて本発明を完成させた。

また、上記において、間質性肺炎はリンパ球を活性化させた状態、即ち、IL-2の共存下でのみ発症することからIL-2の作用を抑制することによっても間質性肺炎の発症が抑制されることを見出した。

本発明は、IL-18阻害剤および/またはIL-2阻害剤の少なくとも1種または2種以上を有効成分とすることを特徴とする間質性肺炎治療薬に関する。

さらに、上記においてIL-18およびIL-2をげっ歯類に投与することによって間質性肺炎の動物モデルを作成し得ることが見い出されたことから、当該動物モデルを用いる間質性肺炎治療薬のスクリーニングが可能となった。従って、本発明は、間質性肺炎治療薬の動物モデルの作成方法および当該動物モデルを用

いた間質性肺炎治療薬のスクリーニング方法に関する。

以下、本発明を詳細に説明する。

図面の簡単な説明

図 1 は正常 C57BL/6 マウス（陰性対照群）の顕微鏡写真を示す図である。

図 2 は正常 C57BL/6 マウス（プレオマイシン投与群）の顕微鏡写真を示す図である。

図 3 は I L-18 ノックアウト・マウス（プレオマイシン投与群）の顕微鏡写真を示す図である。

図 4 は I L-18 受容体 α ノックアウト・マウス（プレオマイシン投与群）の顕微鏡写真を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明に用いられる I L-18 阻害剤としては、過剰に発現した I L-18 の働きを抑える物質であれば特に限定されない。

本発明に用いられる I L-18 阻害剤としては、例えば、pro I L-18 から mature I L-18 への変換を阻害する物質が挙げられる。当該物質の具体例としては、システインプロテアーゼの阻害剤を挙げることができる。システインプロテアーゼの阻害剤としてはインターロイキン 1β 変換酵素阻害剤（カスパーゼ 1 の阻害剤）が好適に使用できる。

また、本発明に用いられる I L-18 阻害剤としては、I L-18 結合蛋白質、抗 I L-18 抗体等の I L-18 の活性を中和する物質および I L-18 受容体への I L-18 の結合を阻害する物質等が挙げられる。更に、I L-18 受容体結合後のシグナル伝達の阻害剤等が挙げられる。

本発明に用いられる I L-18 阻害剤としては、特に、I L-18 受容体への I L-18 の結合を阻害する物質が好適に使用される。

本発明に用いられるインターロイキン 1β 変換酵素阻害剤としては、種々の化合物が知られており、具体例として、例えば、公開特許公報平 5-255218 号公報に記載のペプチド誘導体、公開特許公報平 11-147873 号公報に記

載のスルホンアミド誘導体、公表特許公報平10-504285号公報に記載のペプチド誘導体、公開特許公報平11-147895号公報に記載のグリシン誘導体および国際出願WO97/24339号公報に記載のテトラゾール誘導体等が挙げられる。

IL-18結合蛋白質は、文献[Immunity, 10, 127-136(1999)]に記載の方法に準じて調製することができる。

IL-18に特異的なモノクローナル抗体は、文献[J. Immunol. Methods, 217, 97-102(1998)]に記載の方法に準じて調製することができる。

IL-18受容体(IL-18R α)へのIL-18の結合を阻害する物質の具体例としては、例えば、IL-18受容体蛋白質およびIL-18の受容体に特異的なモノクローナル抗体等を挙げることができる。

上記IL-18の受容体に特異的なモノクローナル抗体は、哺乳動物由来の抗体、キメラ抗体または擬人化抗体のいずれであっても良い。

本発明に用いられるIL-18受容体蛋白質およびIL-18の受容体に特異的なモノクローナル抗体は、例えば、特開平11-100400号公報に記載の方法に準じて調製することができる。

本発明に用いられるIL-2阻害剤としては、過剰に発現したIL-2の働きを抑える物質であれば、特に限定されない。

本発明に用いられるIL-2阻害剤としては、例えば、抗IL-2抗体等のIL-2の活性を中和する物質、IL-2とジフテリア毒素の融合体(IL-2融合蛋白)のようにIL-2のアンタゴニストとして作用する物質およびIL-2受容体へのIL-2の結合を阻害する物質等が挙げられる。IL-2受容体へのIL-2の結合を阻害する物質としては、IL-2受容体の α 鎖、 β 鎖および/または γ 鎖のサブユニットに結合する抗体およびリガンドを挙げることができる。

抗IL-2抗体等のIL-2の活性を中和する物質は、例えば、特開昭60-246322号公報に記載されている。

IL-2のアンタゴニストとして作用する物質は、例えば、特公平6-923

18号公報に記載されている。また、IL-2とジフテリア毒素の融合体制剤は、T細胞皮膚リンパ腫、乾癬等の治療薬として、DAB389 IL-2およびオンターク（ONTAK）（商品名）等の開発が進められている。ONTAKは、T細胞皮膚リンパ腫の治療薬として、すでに米国においては上市されている。

IL-2受容体へのIL-2の結合を阻害する物質の具体例としては、抗IL-2受容体に特異的な抗体が挙げられる。

抗IL-2受容体に特異的な抗体は、例えば、公開特許公報昭62-56440号公報、特開平5-244982号公報および公開特許公報平7-165795号公報に開示されている。

抗IL-2受容体に特異的な抗体としては、モノクローナル抗体が好ましい。抗IL-2受容体に特異的なモノクローナル抗体としては、例えば、抗IL-2受容体ヒト化モノクローナル抗体（ヒト化抗Tac抗体）が好適に使用される。ヒト化抗Tac抗体は、米国特許5530101号公報に開示されている。また、ヒト化抗Tac抗体は、腎臓移植における拒絶反応抑止薬としてゼナパックス（Zenapax）の商品名で既に米国等において上市されている。

本発明の間質性肺炎治療薬は、適宜、経口投与用製剤、注射剤または吸入剤等種々の製剤形態で患者に投与することができる。

また、本発明の間質性肺炎治療薬は、適宜、ステロイド剤等、間質性肺炎に用いられる他の薬剤と組み合わせて使用することもできる。更に、本発明に使用されるインターロイキン1 β 変換酵素阻害剤、IL-18結合蛋白質、抗IL-18抗体、IL-18の受容体に特異的なモノクローナル抗体、抗IL-2抗体、IL-2融合蛋白およびIL-2受容体に特異的なモノクローナル抗体等を適宜2種以上組み合わせて使用することもできる。

本発明の間質性肺炎治療薬の各種製剤は、常法により製造することができる。例えば、経口投与のための剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤および散剤等があり、これらの製剤は、本発明に用いられるIL-18阻害剤および/またはIL-2阻害剤の少なくとも1種または2種以上と、乳糖、コーンスターチ、結晶セルロース、ステアリン酸マグネシウム、カルボキシメチルセルロー

スカルシウム、ヒドロキシプロピルセルロース、タルク等の通常の医薬品添加物とを適宜混合し、常法により製造される。

注射剤は、常法によって製造することができ、適宜、マンニトール、塩化ナトリウム、グルコース、ソルビット、グリセロール、キシリトール、フルクトース、マルトース、マンノース等の等張化剤、亜硫酸ナトリウム、アルブミン等の安定化剤、ベンジルアルコール、パラヒドロキシ安息香酸メチル等の保存剤等を製剤中に添加することができる。

注射剤は、用時溶解用の凍結乾燥製剤とすることもできる。凍結乾燥製剤は、常法によって製造することができ、適宜、上記、等張化剤、安定化剤、保存剤等を製剤中に添加することができる。

吸入剤は、常法によって製造することができ、本発明に用いられる I L—18 阻害剤および/または I L—2 阻害剤の少なくとも1種または2種を生理食塩液に溶解または懸濁させ、適宜、マンニトール、塩化ナトリウム、グルコース、ソルビット、グリセロール、キシリトール、フルクトース、マルトース、マンノース等の等張化剤、亜硫酸ナトリウム、アルブミン等の安定化剤、ベンジルアルコール、パラヒドロキシ安息香酸メチル等の保存剤等を添加して調製される。

本発明に用いられる I L—18 阻害剤および/または I L—2 阻害剤の少なくとも1種または2種が、I L—18 または I L—2 の受容体に特異的なモノクローナル抗体である場合には、本発明の間質性肺炎治療薬は、通常注射剤もしくは吸入剤として用いられる。当該注射剤もしくは吸入剤の製造も常法によって行うことができる。

本発明の間質性肺炎治療薬の投与量は、本発明に用いられる阻害剤の種類、投与経路、患者の病態、年齢、体重などによってもそれぞれ異なるが、通常、1日当たり 0.1 mg から 1,000 mg であり、これを1度にまたは2～3回に分けて適宜投与する。

本発明に包含される間質性肺炎治療薬の動物モデルに使用されるげっ歯類としては、マウス、ラット等が挙げられるが、マウスが好ましい。

本発明の間質性肺炎の動物モデルは、I L—18 および I L—2 を、例えば、

後記試験例 1 に示すようにマウスに連続投与することによって容易に作成することができる。

また、このようにして作成された間質性肺炎の動物モデルに、適宜、被検薬を投与し、被検薬の当該モデル動物に対する効果（例えば、生存率等）を検討することによって、間質性肺炎治療薬のスクリーニングを行うことができる。

本発明の効果は、以下の試験例 1 から試験例 3 の試験結果から明らかである。

試験例 1 - (1)

IL-2 + IL-18 投与による間質性肺炎発症の証明 (1) :

(1) 試験方法 :

C57BL/6 およびBALB/cの 2 系統のマウスについて、それぞれ以下の試験を行った。両系統のマウスは全て 6 週令の雌を使用した。

マウス (1 群 5 - 10 匹) を群分けし、1 日 1 回連続 10 日間、下表に示す処置を行った。全てのマウスは 11 日目に回収された。

回収されたマウスを解剖し、全ての臓器をヘマトキシリン-エオシン (HE) 染色し、検鏡した。

IL-2 および IL-18 は、何れも市販の、リコンビナント・ヒト IL-2 およびリコンビナント・マウス IL-18 を使用した。

表 1

グループ	投与試料 (腹腔内投与)
1	PBS 0.2 ml
2	IL-2 (50000 IU) / 0.2 ml PBS
3	IL-18 (2 μ g) / 0.2 ml PBS
4	IL-2 (50000 IU) + IL-18 (0.04 μ g) / 0.2 ml PBS
5	IL-2 (50000 IU) + IL-18 (0.1 μ g) / 0.2 ml PBS
6	IL-2 (50000 IU) + IL-18 (0.5 μ g) / 0.2 ml PBS
7	IL-2 (50000 IU) + IL-18 (1 μ g) / 0.2 ml PBS
8	IL-2 (50000 IU) + IL-18 (2 μ g) / 0.2 ml PBS

(2) 試験結果 :

C57BL/6 系統 ;

対照群（グループ1）、IL-2 単独投与群（グループ2）およびIL-18 単独投与群（グループ3）では全てのマウスが生存した。

IL-2 とIL-18を同時に投与した群では、IL-18の量が $0.04\mu\text{g}$ の群（グループ4）では全てのマウスが生存したが、 $0.1\mu\text{g}$ 、 $0.5\mu\text{g}$ 、 $1\mu\text{g}$ 、 $2\mu\text{g}$ の群（グループ5-8）ではマウスの生存率は0-10%であり、IL-18の量に依存してマウスの生存期間が短縮した。

BALB/c系統；

対照群（グループ1）、IL-2 単独投与群（グループ2）およびIL-18 単独投与群（グループ3）では全てのマウスが生存した。

IL-2 とIL-18を同時に投与した群では、IL-18の量が $0.04\mu\text{g}$ の群（グループ4）と $0.1\mu\text{g}$ の群（グループ5）でのマウスの生存率は90-100%であったが、 $0.5\mu\text{g}$ 、 $1\mu\text{g}$ 、 $2\mu\text{g}$ の群（グループ6-8）でのマウスの生存率は0-20%であり、IL-18の量に依存してマウスの生存期間が短縮した。

解剖したマウスのHE染色では、肺のみに病変が認められ、肝臓、心臓、腎臓、消化器等その他の臓器には異常は認められなかった。肺では、間質にリンパ球が浸潤し、肺胞構造の一部が破壊される等、間質性肺炎の症状が認められた。

なお、C57BL/6マウスに、IL-2 (50,000IU)とIL-18 ($0.2\mu\text{g}$)とを0.2mlPBSに懸濁し、1日1回、14日間腹腔内に連続投与し15日以降に回収したマウスでは、肺の線維化が認められた。

以上の結果から、IL-2 共存下において、IL-18の量に依存して間質性肺炎が発症し、呼吸不全により死亡することが判った。即ち、IL-18の作用発現を抑えることによって間質性肺炎が治療し得ることが示唆された。

試験例1 - (2)

IL-2 + IL-18 投与による間質性肺炎発症の証明 (2) :

(1) 試験方法 :

C57BL/6マウスについて、上記試験例1 - (1) に引き続いて以下の試験を行った。マウスは全て6週令の雌を使用した。

マウス（1群10匹）を群分けし、1日1回連続14日間、下表に示す処置を行

った。全てのマウスは14日目に回収された。

回収されたマウスを解剖し、全ての臓器をHE染色し、検鏡した。

IL-2 およびIL-18は、何れも市販の、リコンビナント・ヒトIL-2 およびリコンビナント・マウスIL-18を使用した。

表2

グループ	投与試料（腹腔内投与）
1	PBS 0.2 ml
2	IL-2 (100,000 IU) / 0.2 ml PBS
3	IL-2 (100 IU) + IL-18 (0.5 μ g) / 0.2 ml PBS
4	IL-2 (1,000 IU) + IL-18 (0.5 μ g) / 0.2 ml PBS
5	IL-2 (10,000 IU) + IL-18 (0.5 μ g) / 0.2 ml PBS
6	IL-2 (50,000 IU) + IL-18 (0.5 μ g) / 0.2 ml PBS
7	IL-2 (100,000 IU) + IL-18 (0.5 μ g) / 0.2 ml PBS

(2) 試験結果：

対照群（グループ1）、IL-2 単独投与群（グループ2）では全てのマウスが生存した。

IL-2 とIL-18を同時に投与した群では、IL-2 の量が100IUの群（グループ3）および1,000IUの群（グループ4）では全てのマウスが生存したが、10,000IUの群（グループ5）ではマウスの生存率は60%であり、50,000IUの群（グループ6）および100,000IUの群（グループ7）は全例死亡した。また、IL-2 の量に依存してマウスの生存期間が短縮した。

解剖したマウスのHE染色では、IL-2 とIL-18を同時に投与した群では、肺のみに致死的な病変が認められ、肝臓、心臓、腎臓、消化器等その他の臓器には致死に至るほどの病理学的変化は認められなかった。肺では、間質にリンパ球が急激にまた著明に浸潤し、肺胞構造の一部が破壊される等、間質性肺炎患者の肺病理像とほぼ同一の病理学的変化が認められた。

以上の結果から、IL-18存在下においては、IL-2 の過剰発現によって間質性肺炎が発症し、呼吸不全により死亡することが判った。即ち、IL-2 の作用発現を抑えることによって間質性肺炎が治療し得ることが示唆された。

上記試験例1 - (1) および (2) の結果から、間質性肺炎は、IL-2 およ

び I L-18 の少なくとも何れか一方の作用発現を抑えることによって治療し得ることが示唆された。

試験例 2

I L-18 受容体ノックアウト・マウスによる間質性肺炎発症機序の解明：

(1) 試験方法：

実験動物には、K. Hoshino 等の方法[J. Immunol., 162, 5041-5044(1999)]で作成した 129/SvJ マウスの I L-18 受容体 (I L-18 R α) ノックアウト・マウス (1 群 5 匹、7 週令の雌) と対照群として 129Tcr のワイルド・タイプ (wild type) (1 群 5 匹、15 週令の雌) を使用した。

両群のマウスに、I L-2 (50,000 IU) と I L-18 (1 μ g) とを 0.2ml PBS に懸濁し、1 日 1 回、17 日間腹腔内に連続投与した。全てのマウスを 18 日目に回収し、回収されたマウスを解剖し、全ての臓器を H E 染色し、検鏡した。

I L-2 および I L-18 は、何れも市販の、リコンビナント・ヒト I L-2 およびリコンビナント・マウス I L-18 を使用した。

(2) 試験結果：

対照群の 18 日目における生存率が 20% であったのに対し、I L-18 受容体 (I L-18 R α) ノックアウト・マウス群は、全て生存した。

解剖したすべてのワイルド・タイプマウスの H E 染色では、肺のみに病変が認められ、肝臓、心臓、腎臓、消化器等その他の臓器には異常は認められなかった。肺では、間質にリンパ球が浸潤し、肺胞構造の一部が破壊される等、間質性肺炎の症状が認められた。一方、すべての I L-18 受容体 (I L-18 R α) ノックアウト・マウス群では全く間質性肺炎の症状が認められなかった。

上記の結果から、間質性肺炎発症の機序が、少なくとも I L-18 の過剰発現に依存することが明らかにされた。即ち、この過剰な I L-18 の作用発現を抑えることによって間質性肺炎が治療し得ることが解明された。

試験例 3

I L-18 ノックアウト・マウス、I L-18 受容体 α ノックアウト・マウスによるブレオマイシン肺炎の抑制：

(1) 試験方法：

6週令雌の正常C57BL/6マウス（1群5匹、体重約20g）、IL-18ノックアウト・マウス（1群5匹、体重約20g）、IL-18受容体 α ノックアウト・マウス（1群5匹、体重約20g）にブレオマイシン2mgを含む0.2mlのPBSを尾静脈より投与した。これら正常C57BL/6マウス、IL-18ノックアウト・マウスおよびIL-18受容体 α ノックアウト・マウスを7日目に処分しマウスの肺の組織を光学顕微鏡で観察した。なお、陰性対照群として、正常C57BL/6マウスに溶媒（PBS 0.2ml）のみを同様に投与した群を用いた。

(2) 試験結果：

顕微鏡写真を図1から4に示した。IL-18ノックアウト・マウスおよびIL-18受容体 α ノックアウト・マウスでは正常C57BL/6マウスと比べ肺間質部、血管部へのリンパ球浸潤が抑制された。

これらの事実よりIL-18を抑制することでブレオマイシンによる肺炎（肺腺維症）が抑制された。

以下に、実施例を挙げて、本発明をさらに具体的に説明する。

実施例1

注射剤：

ヒトIL-18の受容体に特異的なモノクローナル抗体が溶解しているPBS（1mg/ml）を濾過滅菌した後、1アンプルに5mlずつ分注することにより、ヒトIL-18の受容体に特異的なモノクローナル抗体を含有する注射剤（5mg／アンプル）が調製される。

実施例2

注射剤：

抗IL-2受容体ヒト化モノクローナル抗体（ヒト化抗Tac抗体）が溶解しているPBS（1mg/ml）を濾過滅菌した後、1アンプルに100mlずつ分注することにより、ヒト化抗Tac抗体を含有する点滴用注射剤（100mg／アンプル）が調製される。

産業上の利用可能性

本発明の間質性肺炎治療薬は、間質性肺炎の病態形成に深く関与する I L—18 の過剰な作用発現を抑えることによって治療効果をもたらす。また、本発明の間質性肺炎治療薬は、間質性肺炎がリンパ球を活性化させた状態、即ち、I L—2 の共存下でのみ発症することから、当該 I L—2 の作用を抑制することによっても治療効果をもたらす。

本発明の間質性肺炎治療薬によって、間質性肺炎から肺線維症への移行が抑制されるため、本発明の間質性肺炎治療薬は、肺線維症の予防・治療薬としても有用である。

また、本発明に包含される間質性肺炎治療薬の動物モデルは、ヒトにおける間質性肺炎の臨床所見に非常に近いことから、当該動物モデルを用いる間質性肺炎治療薬のスクリーニング方法によって、临床上の有効性が期待し得る薬剤を的確にスクリーニングすることができる。

請 求 の 範 囲

1. インターロイキン18阻害剤および/またはインターロイキン2阻害剤の少なくとも1種または2種以上を有効成分とすることを特徴とする間質性肺炎治療薬。
2. インターロイキン18阻害剤を有効成分とすることを特徴とする間質性肺炎治療薬。
3. 阻害剤が、インターロイキン18の前駆体から活性型への変換を阻害する物質である請求項1または請求項2に記載の間質性肺炎治療薬。
4. 阻害剤が、システインプロテアーゼの阻害剤である請求項3に記載の間質性肺炎治療薬。
5. システインプロテアーゼの阻害剤が、インターロイキン1 β 変換酵素阻害剤である請求項4に記載の間質性肺炎治療薬。
6. 阻害剤が、インターロイキン18結合蛋白質である請求項1または請求項2に記載の間質性肺炎治療薬。
7. 阻害剤が、インターロイキン18に特異的なモノクローナル抗体である請求項1または請求項2に記載の間質性肺炎治療薬。
8. 阻害剤が、インターロイキン18の受容体に特異的なモノクローナル抗体である請求項1または請求項2に記載の間質性肺炎治療薬。
9. モノクローナル抗体が、哺乳動物由来の抗体である請求項7または請求項8に記載の間質性肺炎治療薬。
10. モノクローナル抗体が、キメラ抗体である請求項7または請求項8に記載の間質性肺炎治療薬。
11. モノクローナル抗体が、擬人化抗体である請求項7または請求項8に記載の間質性肺炎治療薬。
12. インターロイキン2阻害剤を有効成分とすることを特徴とする間質性肺炎治療薬。
13. 阻害剤が、インターロイキン2に特異的なモノクローナル抗体である請

求項 1 または請求項 1 2 に記載の間質性肺炎治療薬。

14. 阻害剤が、インターロイキン2受容体へのインターロイキン2の結合を阻害する物質である請求項 1 または請求項 1 2 に記載の間質性肺炎治療薬。

15. インターロイキン2受容体へのインターロイキン2の結合を阻害する物質が、インターロイキン2受容体の α 鎖、 β 鎖および/または γ 鎖のサブユニットに結合する抗体またはリガンドである請求項 1 4 に記載の間質性肺炎治療薬。

16. モノクローナル抗体が、哺乳動物由来の抗体である請求項 1 3 または請求項 1 4 に記載の間質性肺炎治療薬。

17. モノクローナル抗体が、キメラ抗体である請求項 1 3 または請求項 1 4 に記載の間質性肺炎治療薬。

18. モノクローナル抗体が、擬人化抗体である請求項 1 3 または請求項 1 4 に記載の間質性肺炎治療薬。

19. 阻害剤が、インターロイキン2のアンタゴニストとして作用する物質である請求項 1 または請求項 1 2 に記載の間質性肺炎治療薬。

20. インターロイキン2のアンタゴニストとして作用する物質が、インターロイキン2とジフテリア毒素の融合体である請求項 1 8 に記載の間質性肺炎治療薬。

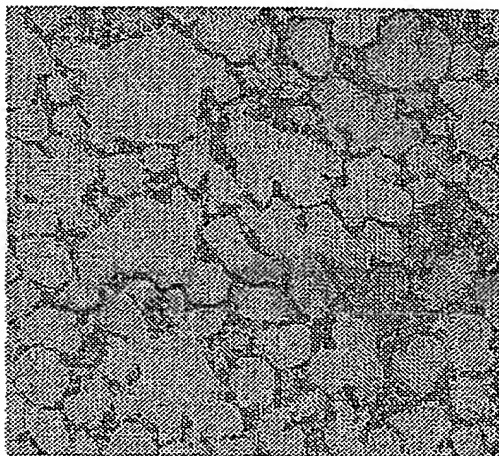
21. インターロイキン18およびインターロイキン2をげっ歯類に投与することを特徴とする間質性肺炎の動物モデルの作成方法。

22. げっ歯類がマウスである請求項 2 1 に記載の間質性肺炎の動物モデルの作成方法。

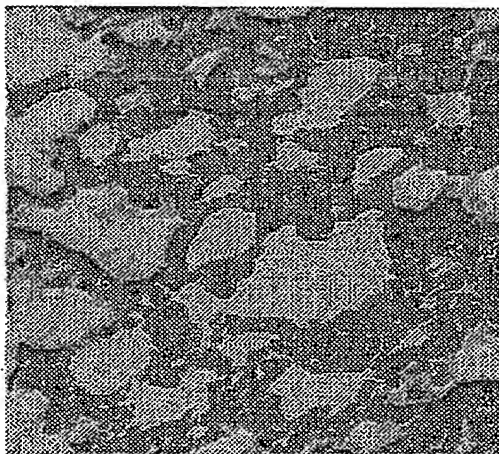
23. 請求項 2 1 または請求項 2 2 に記載の間質性肺炎の動物モデルを用いることを特徴とする間質性肺炎治療薬のスクリーニング方法。

1/2

第 1 図



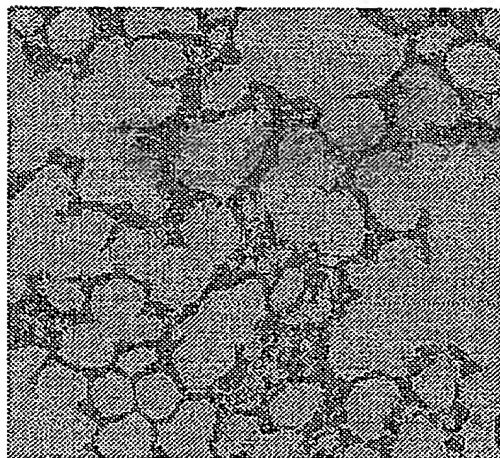
第 2 図



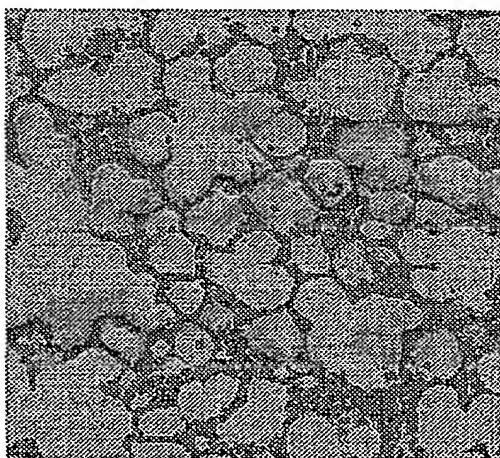
BEST AVAILABLE COPY

2/2

第 3 図



第 4 図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03467

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A61K45/00, A61K38/55, A61K38/00, A61K39/395, A61P11/00,
A01K67/00, G01N33/15

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A61K45/00, A61K38/00, A61K39/395

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), JOIS (JICST)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	Mitsuyo SAITO et al., "Elevated Local Production of Neopterin From Alveolar Macrophages in Patients with Internal Lung Diseases", Gen. Pharmac., Vol.27, No.3, pages 483 to 486, (1996)	1,12-20 2-11,21-23
X A	Shinya TADA et al., "The significance of soluble IL-2 receptors in rheumatoid arthritis with interstitial pneumonia", Allergy, 41(3), pages 428 to 33, (1992)	1,12-20 2-11,21-23

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
24 July, 2001 (24.07.01)Date of mailing of the international search report
07 August, 2001 (07.08.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. 7 A61K45/00, A61K38/55, A61K38/00, A61K39/395, A61P11/00, A01K67/00, G01N33/15

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. 7 A61K45/00, A61K38/00, A61K39/395

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), JOIS (JICST)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X A	Mitsuyo SAITO et. al., "Elevated Local Production of Neopterin From Alveolar Macrophages in Patients with Internal Lung Diseases", Gen. Pharmac., Vol. 27, No. 3, pp. 483-486, 1996	1, 12-20 2-11, 21-23
X A	Shinya TADA et. al., "The significance of soluble IL-2 receptors in rheumatoid arthritis with interstitial pneumonia", アレルギー, 41(3), 428-33, 1992	1, 12-20 2-11, 21-23

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

24. 07. 01

国際調査報告の発送日

07.08.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

高岡 裕美

印

4P

9737

電話番号 03-3581-1101 内線 3492